Aus dem Pharmakologischen Institut der Martin-Luther-Universität
Halle-Wittenberg
Direktor i. V.: Professor Dr. med. Otto Geßner

Vergleichend-pharmakologische Untersuchungen über die haemolytische Wirkung und die Toxizität der Lokalanaesthetika.

Inaugural-Dissertation
zur
Erlangung der Doktorwürde der Zahnheilkunde
einer
Hohen Medizinischen Fakultät
der
Martin-Luther-Universität Halle-Wittenberg

vorgelegt von

Martin Walther
prakt. Zahnarzt aus Halle/Saale

Carl Nieft, Buchdruckerei und Verlag, Bleicherode am Harz
1936

Referent: Prof. Dr. med. O. Geßner
Korreferent: Prof. Dr. med. F. Voelcker

R. UNIV.
BIBLIOTHEEK
LEIDEN

Dem Andenken

meines Vaters gewidmet!

Inhaltsübersicht.

Seite

I. Einleitung. . . . . . 5— 6

II. Experimenteller Teil. . . . . . 6—17

1. Vorbemerkungen zu den Abschnitten H_2 u. H_3 6— 8

2. Ermittlung der haemolytischen Wirkung der Lokalanaesthetika nach Versuchen an Erythrozyten von defibriniertem Rinderblut. . 8—12

3. Ermittlung der Toxizität der Lokalanaesthetika nach Versuchen an der weißen Maus bei intravenöser Injektion . . . . . 12—16

4. Beziehungen zwischen haemolytischer Wirksamkeit und der Toxizität für die Maus . . 16—17

III. Besprechung der Versuchsergebnisse. . . . . 18—19

IV. Zusammenfassung. . . . . . 19—20

I. Einleitung.

Nach den bisher vorliegenden experimentellen Ergebnissen verschiedener Forscher wirken die daraufhin untersuchten Lokalanaesthetika haemolytisch. Der Grad der haemolytischen Wirksamkeit der Lokalanaesthetika ist sehr verschieden und schwankt, soweit bisher bekannt, zwischen erheblichen Grenzen.

So wirkt z. B. Novokain nach Geßner und Nauheimer[1] sowie nach Klenke[2] und Wurbs[3] erst in der außerordentlich hohen Konzentration von 6—7 % haemolytisch, während das Perkain nach Geßner und Nauheimer[1] bereits in der sehr niedrigen Konzentration von 1 : 1000 bei 37° C und in blutisotonischer Kochsalzlösung die roten Blutkörperchen von defibriniertem Rinderblut aufzulösen vermag. Geßner[4] sah in der haemolytischen Wirksamkeit einen wenigstens annähernd bestimmten Maßstab für die Zellgiftigkeit der Lokalanaesthetika. So weist z. B. das Novokain, um bei dem oben angeführten Vergleich zwischen Novokain und Perkain zu bleiben, entsprechend seiner sehr geringen haemolytischen Wirksamkeit auch eine verhältnismäßig geringe allgemeine Giftigkeit auf, während beim Perkain der hohen haemolytischen Wirksamkeit eine ganz erhebliche allgemeine Giftigkeit parallel geht.

Ob die haemolytische Wirksamkeit der Lokalanaesthetika, die ihrem chemischen Aufbau nach Alkaloide darstellen, eine spezifische, von der chemischen Konstitution der betreffenden Base abhängende Wirkung ist, oder ob für die haemolytische Wirksamkeit der Lokalanaesthetika nicht so sehr der chemische Aufbau, sondern vielmehr physikalisch-chemische Eigenschaften, wie etwa die Lipoidlöslichkeit oder die Kapillaraktivität allein oder wenigstens zu einem großen Teile verantwortlich sind, ist bisher meines Wissens noch nicht geprüft oder zumindest noch nicht entschieden worden.

Es mußte daher lohnend erscheinen, diese Frage einmal experimentell an einer größeren Reihe von Lokalanaesthetika zu prüfen. Hierbei mußte die Bedeutung berücksichtigt werden, welche die physikalisch-chemischen Eigenschaften anderer Pharmaka, z. B. der indifferenten Narkotika, für die Wirksamkeit und zwar für die narkotische wie auch für die haemolytische Wirkung dieser Pharmaka hat.

Mir wurde von Herrn Professor Geßner die Aufgabe gestellt, für 15 verschiedene Lokalanaesthetika die haemolytische Wirksam-

keit sowie die Toxizität bei intravenöser Injektion an der weißen Maus in Reihenversuchen zu ermitteln und durch Vergleich der Ergebnisse festzustellen, ob sich bei den untersuchten Lokalanaesthetika eine Parallelität zwischen haemolytischer Wirksamkeit und allgemeiner Toxizität (gemessen an der Dosis letalis minima) feststellen ließe. Ferner sollte nach Beziehungen zwischen haemolytischer Wirksamkeit und allgemeiner Toxizität einerseits und bestimmten, von anderer Seite zu ermittelnden physikalisch-chemischen Eigenschaften der Lokalanaesthetika, insbesondere der Lipoidlöslichkeit, andererseits gefahndet werden, um zu erfahren, ob die Verhältnisse bei den Lokalanaesthetika gleichartig oder ähnlich wie bei den indifferenten Narkotika liegen würden.

II. Experimenteller Teil:

1. Vorbemerkungen zu den Abschnitten II_2 und II_3.

Geprüft wurden im ganzen 15 verschiedene Lokalanaesthetika, und zwar (alphabetisch geordnet):

1. Akoin = Diparaanisyl-monophenetyl-guanidin-hydrochlorid (v. Heyden*)
2. Alypin = Benzoyl-tetramethyl-diamino-pentanol -hydrochlorid. (I. G.-Farben*)
3. Dolantin = 4- (ß-Methoxyaethylamino)-benzoesäure-ß-piperidino-aethylester-monohydrochlorid. (I. G.-Farben*)
4. Eukain B = Trimethylbenzoyl-oxypiperidin. (Schering-Kahlbaum*)
5. Kokain = Benzoyl-ekgonin-methylester, als salzsaures Salz. (E. Merck*)
6. Larokain = 1-p-Aminobenzoyl - 2,2 - dimethyl-3-diaethyl-aminopropanol-hydrochlorid. (Hoffmann-La Roche*)
7. Novokain = p-Amino-benzoyl-diaethylamino-aethanol-hydrochlorid. (I. G.-Farben*)
8. Panthesin = Methansulfonat des N-diaethyl-leucinolesters der p-Amino-benzoesäure. (Sandoz*)
9. Pantokain = salzsaures Salz des p-Butylaminobenzoesäure-ß-dimethyl-aminoaethylesters. (I. G.-Farben*)
10. Perkain = α-Butyloxycinchoninsäure-diaethyl-aethylen-diaminhydrochlorid. (Ciba*)
11. Psikain = saures-weinsaures Salz des Benzoyl-d-pseudoekgonin-methylesters. (E. Merck*)
12. Psikain - Neu = salzsaures Salz des Benzoyl-d-pseudoekgonin-n-propylesters. (E. Merk*)

13. Stovain = Benzoylaethyl-dimethylamino-propanol-hydrochlorid. (Riedel- de Haën*)
14. Tropakokain = Benzoyl-pseudotropin-hydrochlorid. (E. Merck*)
15. Tutokain = Chlorhydrat des p-Amino-benzoyl-dimethyl-amino-methylbutanols. (I. G. Farben*).

Wie die Aufstellung zeigt, wurden nicht nur die wichtigsten der gebräuchlichen Lokalanaesthetika, sondern auch eine Reihe von praktisch weniger wichtigen Lokalanaesthetika in die Untersuchung mit eingereiht. Die Zusammenstellung der Lokalanaesthetika geschah in der Absicht, nicht nur Mittel von gleichartigem oder ähnlichem chemischen Aufbau wie z. B. Novokain, Tutokain, Pantokain, Larokain, sondern auch Lokalanaesthetika von durchaus verschiedener chemischer Konstitution, wie z. B. Kokain, Eukain B, Akoin und Perkain mit zu prüfen.

Die Lösungen der oben angeführten 15 Lokalanaesthetika und zwar der entsprechenden Salze stellte ich für alle Versuche, die unter II_2 und II_3 angeführt werden, mit 0,925%-iger Na Cl-Lösung bezw. mit Warmblüter-Ringerlösung**) her. Da verschiedene Lokalanaesthetika in diesen Lösungen sauer reagierten, wie das schon von Geßner und seinen Mitarbeitern[1, 4, 2] festgestellt ist, brachte ich, um stets bei gleicher Reaktion zu arbeiten, alle Lösungen mit $NaHCO_3$ auf ein p_H von 6,5. Die gleichmäßige Reaktion mit einem p_H von 6,5 war nicht nur für die Versuche an den Mäusen von Bedeutung, sondern in noch höherem Maße für die Haemolyseversuche, da bekanntlich die Wasserstoffionenkonzentration Einfluß auf die haemolytische Wirkung besitzt und deshalb Ergebnisse, die bei verschiedenem p_H gewonnen worden sind, für Vergleiche als nicht einwandfrei anzusehen sein dürften. Sämtliche Lösungen wurden nach Abwiegen der entsprechenden Lokalanaesthetika-Salze auf der analytischen Waage mit Kochsalz- bezw. Ringerlösung im Meßkölbchen für die Reihenversuche täglich frisch hergestellt oder aber, wo dies bei einzelnen Stammlösungen mit Rücksicht auf Substanzmangel nicht möglich war, im Eisschrank aufbewahrt und dann ebenfalls

---

*) Die in Klammern hinter den einzelnen Präparaten genannten Namen bezeichnen die Herstellerfirmen, die mir die Lokalanaesthetika bereitwilligst zu meinen Untersuchungen zur Verfügung stellten, wofür ich auch an dieser Stelle meinen besten Dank sage.

**) $NaCl = 9{,}0$
$KCl = 0{,}42$
$CaCl_2 = 0{,}24$
ad 1000,0 Aqua dest.

in wenigen Tagen verbraucht. Von den jeweils angesetzten Stammlösungen der Lokalanaesthetika war die Novokain-Lösung die einzige, die nicht neutralisiert zu werden brauchte.

2. Ermittlung der haemolytischen Wirkung der Lokalanaesthetika nach Versuchen an Erythrozyten von defibriniertem Rinderblut.

Die Ermittlung der haemolytischen Wirkung der 15 Lokalanaesthetika erstreckte sich auf Versuche an Erythrozyten von defibriniertem Rinderblut, das zweimal in der Woche vom städtischen Schlachthof frisch bezogen wurde. Nach den Versuchen am Tage der Gewinnung wurde das Blut im Eisschrank für die an den beiden folgenden Tagen angesetzten Versuche aufbewahrt. Im übrigen wurde für die Ermittlung der haemolytischen Wirkung eines Lokalanaesthetikum ein- und dasselbe Blut benutzt. In Reihenversuchen kamen über 200 Einzelversuche zur Durchführung, bei denen ich folgendermaßen vorging: In einem Wasserbad mit der konstanten Temperatur von 37° C wurden in dickwandigen Reagenzgläsern Mischungen der verschiedenen Konzentration der Lokalanaesthetika mit Blutkörperchensuspensionen angesetzt und auf haemolytische Wirkung geprüft. Die Ansätze nahm ich in den meisten Fällen so vor, daß z. B. 2 ccm einer isotonischen Lokalanaesthetikum-Lösung 1:150 mit 2 ccm einer 2%-igen Suspension von defibriniertem Rinderblut in 0,925%-iger Kochsalzlösung nach Erwärmung auf 37° C gemischt wurden. So erhielt ich 4 ccm einer Mischung mit einer Endkonzentration des betreffenden Lokalanaesthetikum von 1:300 und einer Blutkörperchensuspension von 1:100. Ausnahmsweise, und zwar ausschließlich dann, wenn nur eine geringe Menge Substanz zur Verfügung stand, ging ich so vor, daß ich zu z. B. 2 ccm einer Lokalanaesthetikumlösung 1:20 defibriniertes Rinderblut in der Menge von 0,02 ccm hinzugab. Durch die kleine Menge des zugegebenen defibrinierten Blutes änderte sich in diesem Falle die Konzentration des Lokalanaesthetikum praktisch nicht, im übrigen ergab auch hier 0,02 ccm defibriniertes Blut mit 2,0 ccm Lokalanaesthetikum-Lösung gemischt eine 1%-ige Suspension der Erythrozyten in 0,925%-iger Na Cl-Lösung. In diesem Falle war somit die Ansatzkonzentration des Lokalanaesthetikum gleich der zu prüfenden Endkonzentration. Auch hier erfolgte die Zugabe des Blutes erst nach Erwärmung auf 37° C.

Als haemolytische Schwellenkonzentration sah ich diejenige Lokalanaesthetikum-Konzentration an, die innerhalb 6 Stunden zur vollständigen Haemolyse führte. Als vollständig haemolysiert bezeichnete ich nur die Proben, bei denen die Deckfarbe des Blutes vollkommen in die Lackfarbe übergegangen war, wo also eine

völlig klare, durchsichtige Lösung entstanden war. Die Ergebnisse derjenigen Versuche, in denen nur teilweise Haemolyse eintrat, sind als Zwischenstufen bei der Aufstellung der Tabellen außeracht gelassen.

Auf eine Wiedergabe der Protokolle der einzelnen Versuche verzichte ich und bringe dafür eine tabellarische Zusammenstellung (Tabelle 1, s. unten) der wichtigsten Versuchsergebnisse. Aus der tabellarischen Zusammenstellung sind die unter den angeführten Bedingungen sich ergebenden haemolytischen Schwellenkonzentrationen der einzelnen Pharmaka ersichtlich. Um einen Vergleich der haemolytischen Wirksamkeit der einzelnen Lokalanaesthetika untereinander zuzulassen, wurden diese Werte nicht nur in Konzentration: Lokalanaesthetikum-Salz, sondern auch Konzentration: Lokalanaesthetikum-Base und in Mol.-Base angegeben.

Aus der Tabelle 1 geht eine recht unterschiedliche haemolytische Wirksamkeit der Lokalanaesthetika hervor. Unter besonderer Berücksichtigung der Spalte 7 der Tabelle 1, in der die Werte für die Basen der Lokalanaesthetika in Mol. % errechnet sind, ergibt sich, daß Novokain die geringste haemolytische Wirksamkeit mit 0,01743 Mol. % besitzt, während Perkain mit 0,000143 Mol. % von allen 15 Lokalanaesthetika die stärkste haemolytische Wirksamkeit aufweist. Bei allen übrigen untersuchten Lokalanaesthetika bewegen sich die Werte innerhalb dieser beiden Grenzen.

Tabelle 1.

Haemolytische Schwellenkonzentrationen der Lokalanaesthetika.

1	2	3	4	5	6	7	8
Nr.	Lokalanaesthetikum	Konz. g-Salz	g-Salz %	Konz. g-Base	g-Base %	Mol.-Base	Mol.-Gew.d. Basen
1	Akoin	1: 600	0,166	1: 656	0,152	0,000355	391,60
2	Alypin	1: 50	2,0	1: 57	1,77	0,00572	278,23
3	Dolantin	1: 330	0,303	1: 369	0,271	0,00079	306,22
4	Eukain B	1: 60	1,66	1: 69	1,45	0,0051	247,18
5	Kokain	1: 50	2,0	1: 56	1,78	0,00587	303,17
6	Larokain	1: 100	1,0	1: 113	0,884	0,00286	278,23
7	Novokain	1: 18	5,5	1: 21	4,8	0,01743	236,18
8	Panthesin	1: 250	0,4	1: 332	0,301	0,000772	292,24
9	Pantokain	1: 730	0,137	1: 831	0,12	0,00038	264,21
10	Perkain	1: 1600	0,0625	1: 1764	0,057	0,000143	356,27
11	Psikain	1: 167	0,6	1: 249	0,401	0,00132	303,17
12	Psikain-Neu	1: 666	0,15	1: 739	0,136	0,000368	331,20
13	Stovain	1: 200	0,5	1: 231	0,4	0,00159	235,18
14	Tropakokain	1: 100	1,0	1: 115	0,871	0,00309	245,16
15	Tutokain	1: 28	3,5	1: 36	2,81	0,0106	250,20

Um einen sinnfälligen Vergleich zwischen der haemolytischen Wirksamkeit der 15 geprüften Lokalanaesthetika zu erhalten, setzte ich die haemolytische Wirksamkeit von Novokain gleich 1 und bezog die Werte der anderen Lokalanaesthetika auf diesen Novokain-Wert. Da Novokain das am wenigsten haemolytisch wirksame Lokalanaesthetikum war, mußten alle anderen Werte größer als 1 sein und mußten, nach Ordnung dieser Zahlen ihrer Größe nach, eine Reihe mit zunehmender haemolytischer Wirksamkeit ergeben. Eine solche Zusammenstellung findet sich in Tabelle 2.

Tabelle 2.

Haemolytische Wirksamkeit der 15 Lokalanaesthetika im Vergleich zum Novokain.

1 Nr.	2 Lokalanaesthetikum	3 Haemolytische Schwellenkonz. in Mol.-Base %	4 Wirksamkeit (Novokain = 1)
1	Novokain	0,01743	1
2	Tutokain	0,0106	1,64
3	Kokain	0,00587	2,96
4	Alypin	0,00572	3,04
5	Eukain B	0,0051	3,41
6	Tropakokain	0,00309	5,64
7	Larokain	0,00286	6,09
8	Stovain	0,00159	10,96
9	Psikain	0,00132	13,20
10	Dolantin	0,00079	22,06
11	Panthesin	0,000772	22,57
12	Pantokain	0,00038	45,86
13	Psikain-Neu	0,000368	47,36
14	Akoin	0,000355	49,09
15	Perkain	0,000143	121,88

Aus der Tabelle 2 ergibt sich, daß, der Reihe nach zunehmend, Tutokain, Kokain, Alypin, Eukain B, Tropakokain und Larokain 1,6 — 6 mal haemolytisch wirksamer waren als Novokain. Dann folgen der Reihe nach mit etwa 10 — 20 facher Wirksamkeit: Stovain, Psikain, Dolantin und Panthesin. Etwa 45 — 50 mal wirksamer als Novokain erwiesen sich Pantokain, Psikain-Neu und Akoin. Über 120 mal wirksamer als Novokain und damit das wirksamste überhaupt war Perkain. Bemerkenswert erscheint, daß Psikain-Neu, welches sich in seinem Aufbau vom Psikain nur dadurch unterscheidet, daß es statt einer Methyl- eine Propylgruppe enthält, bedeutend haemolytisch wirksamer war als Psikain. Sollte wie bei homologen Reihen indifferenter Narkotika auch hier durch die Propylgruppe eine Erhöhung des Teilungskoeffizienten bedingt sein, so würde dies einen wichtigen Hinweis auf die vermuteten Beziehungen zwischen haemo-

lytischer Wirksamkeit und gewissen physikalisch-chemischen Eigenschaften der Lokalanaesthetika geben. Im übrigen siehe hierüber im Abschnitt III.

Vergleicht man die in der Literatur nach den bisherigen Untersuchungen über die haemolytische Wirksamkeit der Lokalanaesthetika festgelegten Werte für die haemolytische Schwellenkonzentration der Lokalanaesthetika mit den von mir gefundenen Werten (s. Tabelle 1 Spalte 3), so ergibt sich hinsichtlich der Lokalanaesthetika Novokain, Pantokain und Larokain praktisch Übereinstimmung mit den Werten von Geßner[1,4] (Novokain), Klenke[2] (Novokain, Pantokain), Jung[5] (Pantokain, Larokain, Novokain) und Sußner[6] (Novokain). Bei einer Reihe anderer Lokalanaesthetika, z. B. bei Akoin, Alypin, Eukain B, Panthesin und Perkain fand Jung[5] etwas niedrigere Schwellenkonzentrationen (Akoin 1 : 1000 in 7½ Stdn., Alypin 1 : 100 in 11 Stdn., Eukain B 1 : 100 in 1 Std., Panthesin 1 : 500 in 10 Stdn., Perkain 1 : 2000 in 3 Stdn.). Die Unterschiede sind aber so geringfügig, daß sie aus der Verschiedenheit der Methodik zu erklären sein dürften. Auch für Tutokain stimmt der von mir gefundene Wert 1 : 29 nicht ganz überein mit dem von Sußner[6] gefundenen Wert von 1 : 40, aber auch hier dürften die Unterschiede auf Verschiedenheit der Methodik zurückzuführen sein. Für Larokain fand Fromherz[7] 1 : 60, Wurbs[3] 1 : 250 (in 16 Stdn. und 1 % in 171 Min.) und ich ebenso wie Jung[5] 1 : 100 (in 6 Stdn.) als haemolytische Schwellenkonzentration. Beim Pantokain fanden Fußgänger und Schaumann[8] im Gegensatz zu den übereinstimmenden Werten von Klenke[2] und mir (1 : 730) erst 1 : 400 als haemolytisch wirksam. Da aber diese Forscher mit Hammelblut und noch dazu in 10 %-iger Suspension gearbeitet haben, dürfte sich die Abweichung wohl dadurch erklären lassen.

Auffallend ist der Unterschied in den Werten für die haemolytische Wirksamkeit von Panthesin: Geßner[4] fand als haemolytische Schwellenkonzentration 1 : 600 bis 1 : 1000, während ich nur 1 : 250 fand. Diese Verschiedenheit der Werte dürfte wohl zwanglos darin ihre Erklärung finden, daß Geßner[4] das S. F. 147 (das nachmalige Panthesin) in nicht gepufferter und deswegen saurer Lösung (Geßner[4] fand für 1 % S. F. 147 ein p_H von 4,6) verwendete, während die von mir benutzte Panthesinlösung wie alle anderen von mir benutzten Lokalanaesthetikalösungen bei einem p_H von 6,5 geprüft wurde. Geßner[4] schreibt auf Seite 145 seiner Veröffentlichung über S. F. 147 (Panthesin) wörtlich: „wie weit an der starken haemolytischen Wirksamkeit die p_H der S. F.-Lösungen beteiligt ist, konnte nicht festgestellt werden, weil sich neutrale Lösungen von S. F. 147 nach dem auf Seite 132 Gesagten ohne Ausflockung des wirksamen Bestandteiles bei 37° C nicht herstellen lassen."

Das von Geßner[4] 1929 benutzte Präparat ließ sich eben nicht neutralisieren, während das von mir geprüfte Panthesinpräparat (1936), aus der Apotheke bezogen, sich ohne Schwierigkeit in Lösung auf ein p_H von 6,5 bringen ließ. Ob dies auf einer Änderung des Präparates durch die Herstellerfirma beruht, entzieht sich meiner Kenntnis. Die größere haemolytische Wirksamkeit, welche Geßner[4] für Panthesin gefunden hatte, läßt sich zwanglos durch die saure Reaktion der damals benutzten Lösung erklären, da bekanntlich Wasserstoffionen mit zunehmender Konzentration haemolysefördernd wirken.

Für das am stärksten haemolytisch wirksame Perkain fanden Geßner und Nauheimer[1] als haemolytische Schwellenkonzentration 1 : 1000 (Haemolyse nach 84 Min.), während 1 : 1250 innerhalb 2 Stunden (länger wurde anscheinend nicht beobachtet) nicht mehr zur Haemolyse führte. Wenn man nun bedenkt, daß in meinen Versuchen Perkain 1 : 1000 nach 92 Minuten zur Haemolyse führte, und daß die von mir gefundene Schwellenkonzentration 1 : 1600 erst nach 5 Stunden 55 Minuten haemolytisch wirkte, so dürfte sich die Verschiedenheit der Werte von Geßner und Nauheimer[1] und von mir ohne weiteres dadurch erklären, daß verschieden lange Zeit die Haemolyse beobachtet wurde. Jung[5] fand, wie oben erwähnt, sogar Perkain 1 : 2000 noch haemolytisch wirksam.

Für die Lokalanaesthetika Dolantin, Psikain, Psikäin-Neu, Tropakokain konnte ich in der Literatur keine Angaben über die haemolytische Schwellenkonzentration finden.

3. Ermittlung der Toxizität der Lokalanaesthetika nach Versuchen an der weißen Maus bei intravenöser Injektion.

Zu diesen Versuchen benutzte ich nur männliche, weiße Mäuse (insgesamt 128). Das Durchschnittsgewicht der Mäuse betrug 20 g. Die Gewichtsfeststellung und die sich anschließende Zufuhr der Lokalanaesthetika erfolgte am nüchternen Tier, da sonst durch die unkontrollierbare Menge von Magen- und Darminhalt falsche Körpergewichte zugrunde gelegt worden wären. Nur so wurde eine möglichst genaue und fehlerfreie Errechnung der Dosis letalis minima auf 1 kg Tier erhalten. Die Tiere wurden deshalb am Abend vor den Versuchen in Einzelhaft gesetzt und ohne Futter gelassen. Am nächsten Tage wurden sie vor der Injektion genau gewogen, nachdem ihnen vorher der Harn abgepreßt war. In den einzelnen Versuchsreihen wurden nach Möglichkeit nur Mäuse verwendet, die

im Gewicht um höchstens 2 g voneinander abwichen. Die Injektion erfolgte nur intravenös, und zwar spritzte ich die Lösung in eine der 4 Schwanzvenen, die durch vorheriges Eintauchen des Schwanzes in ein 45—48° C warmes Wasserbad zur Erweiterung gebracht wurden. Die Spritzen, die zur Injektion Verwendung fanden, waren Lieberg-Spritzen, Ganzglasspritzen von 1/4 bezw. 1/2 ccm Inhalt. Diese Ganzglasspritzen gestatteten bei gutem Kolbenschluß und Verwendung dichtaufsitzender Kanülen (Nr. 20) eine verlustlose Einverleibung und damit eine genaue Dosierung der Lokalanaesthetika. Um Embolieen bei den Versuchstieren zu verhüten, wurden die Lösungen sorgfältig filtriert, und es wurde darauf geachtet, daß die Einspritzungen völlig luftfrei erfolgten. Die intravenöse Injektion wurde nach der Stoppuhr innerhalb einer Minute vorgenommen. Die Konzentrationen der Lokalanaesthetika wählte ich so, daß im Durchschnitt 0,2—0,25 ccm zur Einspritzung kamen. Die Konzentrationen für die einzelnen Lösungen sind im übrigen aus der nachfolgenden Tabelle Nr. 3 ersichtlich. (s. S. 14).

Die verschiedenen Lokalanaesthetika riefen folgende Vergiftungserscheinungen an den Mäusen hervor: Im Anfang zeigte sich Unruhe, zunehmende Steigerung der Erregbarkeit, beschleunigte und krampfhafte Atmung, dann Seitenlage, mehr oder weniger heftige Krämpfe, die meist klonischen Charakter hatten. Sehr starke klonisch-tonische Krämpfe und Opisthotonus riefen Stovain und Psikain hervor. Akoin erzeugte typische fibrilläre Zuckungen, die auf der Guanidin-Natur dieses Lokalanaesthetikum beruhen dürften, da solche fibrilläre Zuckungen eine typische Guanidin-Wirkung darstellen. Alle Lokalanaesthetikum-Lösungen führten zum Tode durch primären Atemstillstand; das Herz wurde bei sofort vorgenommener Sektion fast immer noch schlagend vorgefunden.

Auf eine Aufführung der einzelnen Versuchsprotokolle verzichte ich und stelle dafür die Ergebnisse dieser Untersuchungen in der folgenden Tabelle 3 (s. S. 14) zusammen.

In der Tabelle 3 ist die Dosis letalis minima der einzelnen Lokalanaesthetika unter Aufführung der benutzten Konzentrationen der Lokalanaesthetika-Salze (Spalte 3) zunächst in g-Salz (Spalte 4), dann in g-Base (Spalte 5) und endlich in Mol-Base (Spalte 6) pro 1 kg Maus aufgeführt. Zu einem Vergleich der Toxizität der 15 Lokalanaesthetika untereinander sind nur die Werte in Spalte 6 geeignet, die die Toxizität in mol Base/kg Tier wiedergeben.

Tabelle 3.

Dosis letalis minima für die weiße Maus bei intravenöser Einspritzung der Lokalanaesthetika.

1	2	3	4	5	6	7
Nr.	Lokalan-aesthetikum	Konz. Salz	pro kg Tier g-Salz	g-Base	Mol. Base	Mol.-Gew. der Basen
1	Akoin	0,2	0,053	0,048	0,000122	391,60
2	Alypin	0,2	0,039	0,034	0,000122	278,23
3	Dolantin	0,5	0,055	0,049	0,00016	306,22
4	Eukain B	0,5	0,071	0,061	0,00025	247,18
5	Kokain	0,2	0,03	0,026	0,000085	303,17
6	Larokain	0,5	0,05	0,044	0,00016	278,23
7	Novokain	0,5	0,085	0,073	0,00031	236,18
8	Panthesin	0,2	0,049	0,037	0,000126	292,24
9	Pantokain	0,1	0,016	0,014	0,000053	264,21
10	Perkain	0,04	0,009	0,0081	0,000023	356,27
11	Psikain	0,25	0,026	0,017	0,000056	303,17
12	Psikain-Neu	0,25	0,02	0,018	0,000054	331,20
13	Stovain	0,5	0,082	0,071	0,000302	235,18
14	Tropakokain	0,5	0,042	0,036	0,000147	245,16
15	Tutokain	0,5	0,068	0,059	0,000236	250,20

Somit ergibt sich, daß Novokain mit 0,00031 Mol.-Base die geringste toxische Wirkung besitzt, während Perkain mit 0,000023 Mol.-Base auch hier von allen 15 Lokalanaesthetika das wirksamste ist. Die Werte der übrigen untersuchten Lokalanaesthetika für die Dosis letalis minima für die Maus bei intravenöser Einspritzung liegen innerhalb dieser beiden Grenzen. Um die 15 geprüften Lokalanaesthetika bezüglich ihrer Toxizität für die Maus sinnfällig untereinander vergleichen zu können, setzte ich die Toxizität von mol Base/kg für Novokain = 1 und bezog die Werte der übrigen Lokalanaesthetika auf den Novokainwert. Aus der Feststellung, daß Novokain das für die Maus am wenigsten giftige Lokalanaesthetikum war, ergibt sich, daß die Werte für die Toxizität aller anderen Lokalanaesthetika größer als 1 sein müssen. Nach Ordnung dieser Zahlen entsprechend ihrer Größe ergab sich eine Reihe von Werten mit zunehmender Toxizität. (s. Tabelle 4 auf S. 15).

Aus der Tabelle 4, Spalte 4, ist ersichtlich, daß die Lokalanaesthetika Stovain, Eukain B und Tutokain für die Maus nur wenig giftiger waren als Novokain. Etwa doppelt so wirksam wie Novokain erwiesen sich Larokain, Dolantin und Tropakokain. Etwa 2 ½ mal wirksamer als Novokain waren Panthesin, Alypin und Akoin, die beiden letzten zeigten übrigens denselben Wert für die Toxizität. Es folgte dann als etwas über 3 ½ mal so wirksam wie Novokain das Kokain, während Psikain, Psikain-Neu und Pantokain der Reihe nach zunehmend etwa 5 ½ — 6 mal giftiger als Novokain waren.

Am giftigsten und zwar rund 13½ mal so wirksam wie Novokain zeigte sich Perkain.

Tabelle 4.

Toxizität der Lokalanaesthetika (Dosis letalis minima für die Maus intravenös) im Vergleich zum Novokain.

1	2	3	4
Nr.	Lokalanaesthetikum	D. l. m. f. d. Maus i. v. mol Base/kg Tier	Toxizität (Novokain = 1)
1	Novokain	0,00031	1
2	Stovain	0,000302	1,02
3	Eukain B	0,00025	1,24
4	Tutokain	0,000236	1,31
5	Larokain	0,00016	1,93
6	Dolantin	0,00016	1,93
7	Tropakokain	0,000147	2,10
8	Panthesin	0,000126	2,46
9	Alypin	0,000122	2,54
10	Akoin	0,000122	2,54
11	Kokain	0,000085	3,64
12	Psikain	0,000056	5,53
13	Psikain-Neu	0,000054	5,74
14	Pantokain	0,000053	5,85
15	Perkain	0,000023	13,47

Vergleicht man die in der Literatur nach den bisherigen Untersuchungen über die Toxizität der Lokalanaesthetika, bestimmt als Dosis letalis minima für die weiße Maus bei intravenöser Injektion, festgelegten Werte mit den von mir ermittelten und in der Tabelle 3, Spalte 4, aufgeführten Werten, so ergibt sich daraus folgender Vergleich: Für Perkain fand Geßner[10] mit 0,009 g/kg für die Maus intravenös denselben Wert wie ich. Desgleichen stimmen die von Geßner, Klenke und Wurbs[9] gefundenen Werte für Larokain mit den von mir gefundenen Werten überein (0,05 g/kg), während Fromherz[7] mit seiner Angabe von 0,04 g/kg für Larokain einen um ein wenig geringeren Wert für die Dosis letalis minima ermittelte. Für Novokain fanden Geßner, Klenke und Wurbs[9] mit 0,09 g/kg ebenso wie Perez-Civera[11] Werte, die sich mit den von mir gefundenen (0,085 g/kg) praktisch decken. Eine größere Abweichung hinsichtlich der Toxizität der Lokalanaesthetika zeigen schon die von Fromherz[7], ferner von Fußgänger u. Schaumann[8] gefundenen Werte von 0,06 — 0,07 bezw. 0,055 g/kg für Novokain im Vergleich zu den oben angeführten Werten von 0,085 — 0,09 g/kg. Der von mir gefundene Wert für Pantokain mit 0,016 g/kg stimmt mit demjenigen von Geßner und seinen Mitarbeitern Klenke und Wurbs[9] (0,015 g/kg)

gut überein, auch die für Pantokain ermittelten Werte von Fußgänger u. Schaumann[8] mit 0,01 — 0,012 g/kg ergaben eine nur geringe Abweichung von meinen Werten. Für Kokain fand Fromherz[7] mit 0,03 g/kg denselben Wert für die Toxizität wie ich, während Grode[12] und Lipschitz[13] abweichende Werte für die Toxizität ermittelten. Für Tutokain fand Fromherz[7] 0,05 g/kg, während ich 0,068 g/kg ermittelte. Für die Lokalanaesthetika Akoin, Alypin, Dolantin, Eukain B, ferner für Psikain, Psikain-Neu, Stovain und Tropakokain konnte ich in der Literatur keine Angaben über Toxizität, gemessen an der Dosis letalis minima für die weiße Maus bei intravenöser Einspritzung, finden.

4. Beziehungen zwischen haemolytischer Wirksamkeit und der Toxizität für die Maus.

Betrachtet und vergleicht man die in den Tabellen 1 und 2 zusammengestellten Werte für die haemolytische Wirksamkeit der Lokalanaesthetika mit den in den Tabellen 3 und 4 aufgeführten Werten für die Toxizität der Lokalanaesthetika (gemessen an der Dosis letalis minima für die Maus bei intravenöser Injektion), so ergibt sich zwar, daß Novokain in beiden Fällen das am wenigsten giftige Lokalanaesthetikum, und Perkain das wirksamste aller 15 Lokalanaesthetika ist. Wenn man aber die Tabellen 2 und 4, in denen die haemolytische Wirksamkeit (Tabelle 2) bezw. die Toxizität (Tabelle 4) im Verhältnis zum Novokain (= 1) angeordnet sind, miteinander vergleicht, so ergibt sich, abgesehen von den in beiden Tabellen gleichen Anfangs- und Endgliedern der Reihen nicht die gleiche Reihenfolge der Lokalanaesthetika; d. h., daß haemolytische Wirksamkeit und Toxizität nicht ohne weiteres parallel gehen. Im allgemeinen sind zwar die für die Maus weniger giftigen Lokalanaesthetika auch in der Haemolyse weniger wirksam, aber eine gesetzmäßige Beziehung läßt sich in dieser Hinsicht nicht ableiten. Perkain z. B., das für die Maus etwa 9 mal giftiger ist als Novokain, ist hinsichtlich der haemolytischen Wirksamkeit über 120 mal wirksamer als Novokain. Panthesin ist für die Maus etwa 2 ½ mal, in der Haemolyse dagegen 22,5 mal wirksamer als Novokain. In diesen beiden Fällen, die sich noch durch die Verhältnisse beim Dolantin und Stovain ergänzen ließen, zeigt sich somit, daß die haemolytische Wirksamkeit etwa 10 mal größer ist als die Giftigkeit für die Maus.

Vergleicht man nun, wie dies in der folgenden Tabelle 5 (s. S. 17) geschehen ist, die Werte der 4. Spalte der beiden Tabellen 2 und 4 und errechnet den Quotienten zwischen dem haemolytischen und

dem Toxizitäts-Index (Novokain = 1), so erhält man, wie aus Spalte 5 der Tabelle 5 hervorgeht, für Novokain selbstverständlich den Wert 1, für Perkain aber nicht den größten Wert überhaupt, sondern nur rund 9, während dieser Quotient für Akoin mit über 19 den größten Wert erreicht. Je größer der Quotient in Spalte 5 der Tabelle 5 ist, umso größer ist die haemolytische Wirksamkeit (bezogen auf Novokain = 1) im Vergleich zur Toxizität für die Maus (Novokain = 1). Mit ihren Quotienten nähern sich dem Novokain mit Quotienten von etwa 3 — 1,2 der Reihe nach die Lokalanaesthetika: Larokain, Eukain B, Tropakokain, Psikain, Tutokain und Alypin, während Kokain mit 0,81 sogar einen kleineren Quotienten als Novokain aufweist. Kokain ist somit für die weiße Maus giftiger als seiner haemolytischen Wirksamkeit entspricht, während alle anderen Lokalanaesthetika, bezogen auf Novokain = 1, einen größeren haemolytischen Index, als ihrer Giftigkeit für die Maus entspricht, aufweisen. Der Vollständigkeit halber sei noch erwähnt, daß Pantokain und Psikain-Neu mit einem Quotienten von etwa 8 zwischen den zuerst genannten Lokalanaesthetika Perkain, Panthesin, Stovain, Dolantin,

Tabelle 5.

$$\text{Quotient:} \quad \frac{\text{Haemolytische Wirksamkeit}}{\text{Toxizität für die Maus}} \qquad (\text{Novokain} = 1)$$

1	2	3	4	5
Nr.	Lokalanaesthetikum	Haemolyse Novokain = 1	Toxizität Novokain = 1	Quotient: Haemolyse / Toxizität
1	Novokain	1	1	1
2	Tutokain	1,64	1,31	1,25
3	Kokain	2,96	3,64	0,81
4	Alypin	3,04	2,54	1,19
5	Eukain B	3,41	1,24	2,75
6	Tropakokain	5,64	2,10	2,68
7	Larokain	6,09	1,93	3,15
8	Stovain	10,96	1,02	10,74
9	Psikain	13,20	5,53	2,38
10	Dolantin	22,06	1,93	11,42
11	Panthesin	22,57	2,46	9,17
12	Pantokain	45,86	5,85	7,84
13	Psikain-Neu	47,36	5,74	8,25
14	Akoin	49,09	2,54	19,32
15	Perkain	121,88	13,47	9,04

Akoin und den an zweiter Stelle aufgeführten Lokalanaesthetika Larokain, Eukain B, Tropakokain, Psikain, Tutokain und Alypin sich einreihen.

III. Besprechung der Versuchsergebnisse.

Es war die Frage aufgeworfen worden, ob eine Parallelität zwischen haemolytischer Wirksamkeit und allgemeiner Toxizität der Lokalanaesthetika bestehen würde. Die zu diesem Zweck an 15 Lokalanaesthetika durchgeführten Untersuchungen ergaben, daß eine solche Parallelität im strengen Sinne nicht besteht. Zwar erwies sich Novokain sowohl in der haemolytischen Wirkung als auch in der Toxizität als das am wenigsten giftige Lokalanaesthetikum und Perkain entsprechend als das am stärksten wirksame Lokalanaesthetikum, aber für die anderen Lokalanaesthetika ergaben sich keine gesetzmäßigen Beziehungen zwischen haemolytischer Wirksamkeit und Toxizität.

In der Einleitung war auch auf die Frage hingewiesen worden, ob die haemolytische Wirksamkeit der Lokalanaesthetika eine spezifische, vom chemischen Aufbau der betreffenden Base abhängige Wirkung darstellen würde, oder ob für die haemolytische Wirksamkeit nicht so sehr die chemische Konstitution als vielmehr bestimmte physikalisch-chemische Eigenschaften wie etwa die Lipoidlöslichkeit oder die Kapillaraktivität verantwortlich sein würden.

Untersuchungen über die Lipoidlöslichkeit der Lokalanaesthetika wurden auf Veranlassung von Herrn Professor Geßner durch den Chemiker des Instituts, Herrn Dr. scient. nat. Reinhardt ausgeführt. Es wurden bisher für 13 der 15 von mir geprüften Lokalanaesthetika zunächst die Werte für die Löslichkeit der freien Basen in Olivenöl einerseits und in Wasser andererseits bestimmt und daraus ein Quotient errechnet, der zwar nicht ohne weiteres dem Teilungskoeffizienten von H. H. Meyer entspricht, aber doch geeignet erscheint, als annähernder Gradmesser der Lipoidlöslichkeit der entsprechenden Lokalanaesthetika-Basen zu dienen. Die Errechnung des Quotienten:

$$\frac{\text{absolute Löslichkeit der Base in Öl}}{\text{absolute Löslichkeit der Base in Wasser}}$$

ergab nun Werte, die von Dr. Reinhardt an anderer Stelle mitgeteilt werden sollen, von denen ich aber an dieser Stelle soviel sagen kann, daß sich daraus gesetzmäßige Beziehungen, geschweige denn eine Parallelität zwischen der Wirksamkeit der Lokalanaesthetika und ihrer nach obigem Vorgehen ermittelten Lipoidlöslichkeit nicht ergeben. Diese Untersuchungen von Dr. Reinhardt sind dann noch ausgedehnt worden auf die Ermittlung des wirklichen Teilungskoeffizienten im Sinne von H. H. Meyer. Auch nach den Ergebnissen dieser Untersuchungen kann von einer gesetzmäßigen Be-

ziehung zwischen der Wirksamkeit der Lokalanaesthetika und ihrer Lipoidlöslichkeit nicht die Rede sein. Es dürfte daher anzunehmen sein, daß für die Wirksamkeit der Lokalanaesthetika, insbesondere auch für ihre hämolytische Wirksamkeit in erster Linie der spezifische chemische Aufbau der Basen in Betracht kommt im Gegensatz zu den Verhältnissen bei den indifferenten Narkotika, für deren Wirksamkeit physikalisch-chemische Eigenschaften wie Lipoidlöslichkeit und Kapillaraktivität von ausschlaggebender Bedeutung sind.

IV. Zusammenfassung.

Es wurden 15 verschiedene Lokalanaesthetika und zwar: Akoin, Alypin, Dolantin, Eukain B, Kokain, Larokain, Novokain, Panthesin, Pantokain, Perkain, Psikain, Psikain-Neu, Stovain, Tropakokain und Tutokain auf ihre haemolytische Wirkung an Erythrozyten von defibriniertem Rinderblut und auf ihre toxische Wirkung an der weißen Maus bei intravenöser Einspritzung untersucht.

Die Haemolyseversuche ergaben eine recht verschiedene haemolytische Wirksamkeit der 15 Lokalanaesthetika. Novokain war am wenigsten haemolytisch wirksam, Perkain am stärksten, von den übrigen erwiesen sich Tutokain, Kokain, Alypin, Eukain B, Tropakokain und Larokain 1,6—6 mal haemolytisch wirksamer als Novokain; 10—20 mal wirksamer als Novokain waren Stovain, Psikain, Dolantin, Panthesin; 45—50 mal wirksamer als Novokain waren Pantokain, Psikain-Neu und Akoin; über 120 mal wirksamer als Novokain war Perkain.

Bei der Ermittlung der Toxizität (Dosis letalis minima für die Maus intravenös) zeigte Novokain wie bei der haemolytischen Wirkung die geringste Giftigkeit. Am giftigsten erwies sich auch hier Perkain. Es waren Stovain, Eukain B und Tutokain nur wenig wirksamer als Novokain. Doppelt so wirksam wie Novokain waren Larokain, Dolantin, Tropakokain; 2½ mal wirksamer als Novokain waren Panthesin, Alypin, Akoin; 3½ mal so wirksam wie Novokain war Kokain; 5½—6 mal giftiger waren Psikain, Psikain-Neu und Pantokain; 13½ mal wirksamer als Novokain war Perkain.

Eine strenge Parallelität zwischen haemolytischer Wirksamkeit und Toxizität für die Maus konnte nicht festgestellt werden. Zwar war Novokain in beiden Fällen das am wenigsten wirksame, Perkain dagegen in beiden Fällen das wirksamste Lokalanaesthetikum, aber Perkain erwies sich im Vergleich zum Novokain in der Haemolysewirkung 120 mal, in der Toxizität für die Maus nur 13½ mal giftiger als Novokain. Die übrigen Lokalanaesthetika ergaben im Vergleich zum Novokain bezüglich der Toxizität eine andere Reihenfolge als in der haemolytischen Wirksamkeit.

Bei Errechnung des Quotienten $\frac{\text{haemolytischer Index}}{\text{Toxizitäts-Index}}$ (Novokain = 1) ergab sich nicht für Perkain der größte Wert, sondern für Akoin mit 19 gegenüber Perkain mit 9. Nur wenig größer als beim Perkain war der Quotient bei Panthesin, Stovain und Dolantin, während der Quotient für Pantokain und Psikain-Neu nur wenig geringer als der von Perkain war. Dem Novokain (Quotient 1) näherten sich Larokain, Eukain B, Tropakokain, Psikain, Tutokain, Alypin, während Kokain einen Quotienten von 0,81 aufwies, mithin für die weiße Maus giftiger war als seiner haemolytischen Wirksamkeit im Vergleich zum Novokain entsprach.

Zum Schluß spreche ich Herrn Professor Dr. Geßner für die Anregung zu der vorliegenden Arbeit sowie für die Unterstützung bei der Durchführung und der Auswertung der Versuche meinen verbindlichsten Dank aus.

Schriftenverzeichnis.

1. Geßner O. u. Nauheimer, J.: **Perkain.**
Schmerz, Narkose, Anaesthesie 1930 H. 2. S. 44.

2. Klenke, J.: **Pantokain.**
Inaugural-Dissertation Marburg 1931.

3. Wurbs, F. R.: **Larokain.**
Inaugural-Dissertation Marburg 1932.

4. Geßner, O.: **SF. 147 (Panthesin).**
Narkose und Anaesthesie 1929 H. 5, S. 129.

5. Jung, H.: **Haemolyseproblem.**
Inaugural-Dissertation Marburg 1932.

6. Sußner, R.: **Tutokain.**
Inaugural-Dissertation Marburg 1924.

7. Fromherz, K.: **Larokain.**
Arch. f. exp. Path. u. Pharm. 158. S. 368, 1930.

8. Fußgänger, R. u. Schaumann, O.: **Pantokain.**
Arch. f. exp. Path. u. Pharm. 160. S. 53, 1931.

9. Geßner, O., Klenke J., Wurbs, F. R.:
Novokain, Pantokain, Larokain.
Arch. f. exp. Path. u. Pharm. 168. S. 447, 1932.

10. Geßner, O.: **Perkain.**
Arch. f. exp. Path. u. Pharm. 168. S. 570, 1932.

11. Perez-Civera, R.: **Novokain.**
Brit. J. Anaesth. 8. S. 67, 1931.

12. Grode, J.: **Kokain.**
Arch. f. exp. Path. u. Pharm. 67. S. 172, 1912.

13. Lipschitz und Laubender: **Kokain, Perkain.**
Klin. Wochenschrift 1929 S. 1438.

Lebenslauf.

Als Sohn des Lehrers Hermann Walther wurde ich, Ernst Martin Walther, am 14. November 1888 in Giebichenstein bei Halle/Saale geboren. Ich besuchte zunächst die Bürgerschule in Giebichenstein, dann die Lateinische Hauptschule der Franke'schen Stiftungen in Halle/Saale und das Gymnasium in Torgau a. E., wo ich Ostern 1909 die Reifeprüfung bestand. An der Universität Halle studierte ich bis zum Ausbruch des Krieges klassische Philologie. Am Weltkrieg nahm ich von Anfang bis Ende teil und wurde verwundet. Nach dem Kriege studierte ich zunächst in Halle klassische Philologie weiter, unterbrach dann mein Studium, um längere Zeit als Hauslehrer tätig zu sein. Nach sechssemestrigem Studium der Medizin in Halle begann ich im Herbst 1927 mit dem Studium der Zahnheilkunde an der Universität Jena, bestand dort 1929 die zahnärztliche Vorprüfung und im Sommer 1931 die zahnärztliche Prüfung in Jena. Seit Herbst 1931 bin ich als Zahnarzt in Halle/Saale in eigener Praxis tätig. Seit 1931 bin ich verheiratet und habe 2 Kinder. Von Anfang Dezember 1935 bis Ende März 1936 war ich im Pharmakologischen Institut mit der Durchführung der vorliegenden Untersuchungen beschäftigt.